

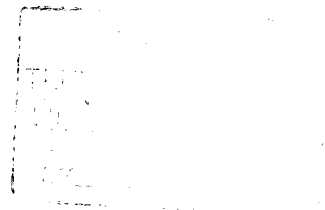
TCVN 6428 : 1998

ISO 5518 : 1978

RAU, QUẢ VÀ CÁC SẢN PHẨM RAU QUẢ -
XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AXIT BENZOIC -
PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ

*Fruits, vegetables and derived products -
Determination of benzoic acid content -
Spectrophotometric method*

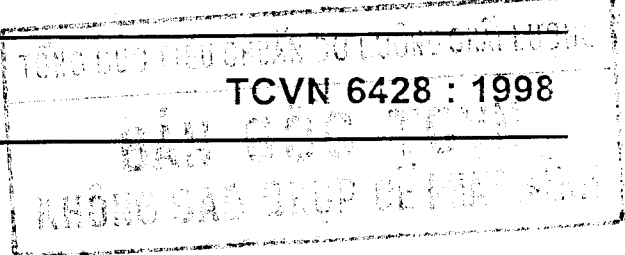
HÀ NỘI - 1998



Lời nói đầu

TCVN 6428 : 1998 hoàn toàn tương đương với ISO 5518 : 1978

TCVN 6428 : 1998 do Ban kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC/F10 Rau quả và sản phẩm rau quả biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng đề nghị và được Bộ Khoa học Công nghệ và Môi trường ban hành.



Rau, quả và các sản phẩm từ rau quả - Xác định hàm lượng axit benzoic - Phương pháp quang phổ

Fruits, vegetables and derived products - Determination of benzoic acid content - Spectrophotometric method

1 Phạm vi và lĩnh vực áp dụng

Tiêu chuẩn này qui định phương pháp xác định hàm lượng axit benzoic của các loại rau quả và các sản phẩm từ rau quả.

Vì các axit chlorobenzoic bền vững đối với sự oxy hoá, nên phương pháp này không thể áp dụng khi có mặt của axit P. clorobenzoic, vì quang phổ hấp thụ của axit này gần với quang phổ hấp thụ của axit benzoic. Phương pháp này cũng không thể áp dụng được khi có mặt của axit xinamic vì nó được chuyển thành axit benzoic bởi sự oxy hoá axit cromic.

Chú thích : axit xinamic được xác định như axit benzoic trong phương pháp này nói chung chỉ tồn tại dưới dạng vết trong rau và do đó không ảnh hưởng tới kết quả thu được, trừ trường hợp vỏ quả chứa nhiều axit này hơn.

2 Nguyên tắc

Làm đồng nhất hoá sản phẩm, sau đó pha loãng và axit hoá phần mẫu thử, chiết axit benzoic bằng dietyl ête, sau đó chiết lại axit này bằng kiềm và tinh chế bằng cách oxy hoá kali dicromat đã được axit hoá. Xác định bằng cách đo quang phổ của axit benzoic tinh khiết được hoà tan trong dietyl ête.

3 Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử phải thuộc loại tinh khiết phân tích. Phải sử dụng nước cất hoặc nước có độ tinh khiết tương đương.

TCVN 6428 : 1998

- 3.1 Axit tataric tinh thể .
- 3.2 Natri hydroxit, dung dịch xấp xỉ 1N.
- 3.3 Kali dicromat, dung dịch 33-34 g/l.
- 3.4 Axit sunfuric, dung dịch thu được bằng cách pha loãng hai thể tích axit sunfuric đậm đặc (ρ_{20} 1,84g/ml) với một thể tích nước.
- 3.5 Dietyl ête mới được cất.
- 3.6 Axit benzoic, dung dịch chuẩn 0,100g/l trong dietyl ête.

4 Thiết bị

Sử dụng thiết bị thí nghiệm thường dùng, và :

- 4.1 Bình định mức, dung tích 50ml, theo ISO 1042.
- 4.2 Cốc có mỏ, dung tích 50ml và 100ml.
- 4.3 Pipet, dung tích 20ml, theo ISO 648.
- 4.4 Pipet chia độ, theo ISO/ R 835.
- 4.5 Bình cầu, dung tích 250ml có nút mài, được làm bằng thủy tinh borosilicat.
- 4.6 Phễu chiết, dung tích 500ml.
- 4.7 Nồi cách thủy, có thể điều khiển nhiệt độ lên 70-80 °C .
- 4.8 Máy làm đồng nhất.
- 4.9 Máy đo quang phổ để xác định trong phạm vi tia cực tím, được trang bị dụng cụ đo đơn sắc cho phép đo chính xác tới 0,5nm, có các cuvét silic có chiều dài đường quang 10mm hoặc 20mm (20mm thì tốt hơn, để tăng độ nhạy) có nút thủy tinh nhám.
- 4.10 Cân phân tích.

5 Cách tiến hành

- 5.1 Chuẩn bị mẫu thử

5.1.1 Các sản phẩm lỏng (dịch quả, các sản phẩm lỏng có thịt quả, xiro) và các sản phẩm đặc (mứt cam, mứt nhuyển).

Làm đồng nhất mẫu thí nghiệm sau khi trộn.

5.1.2 Sản phẩm rắn (rau, quả).

Cắt mẫu thí nghiệm ra thành nhiều miếng nhỏ, bỏ hạt, khoang lá non nếu cần, và nghiền trộn đồng nhất một cách cẩn thận khoảng 40g mẫu.

Để sản phẩm đông lạnh tan giá trong một bình kín và cho dịch tan chảy này vào sản phẩm trước khi nghiền trộn mẫu.

5.2 Phần mẫu thử

5.2.1 Các sản phẩm lỏng

Dùng pipet (4.3), lấy 20ml mẫu thử (5.1), không có các chất ở dạng huyền phù, pha loãng với khoảng 50ml nước và chuyển vào một phễu chiết dung tích 500ml (4.6) (phễu chiết A).

Chú thích : phần mẫu thử này cũng có thể được lấy theo khối lượng, bằng cách cân xấp xỉ 20g mẫu thử chính xác đến 0,01g.

5.2.2 Các sản phẩm lỏng chứa thịt quả

Lấy 20ml mẫu thử (5.1) cho vào cối và nghiền với 20ml nước. Lọc chất lỏng sau khi gạn.

Làm hai lần liên tiếp, cho bã vào 20ml nước rồi gạn, lọc lấy chất lỏng.

Thu toàn bộ dịch lọc trực tiếp vào phễu chiết dung tích 500ml (4.6) (phễu chiết A)

Chú thích : phần mẫu thử này cũng có thể được lấy theo khối lượng, bằng cách cân xấp xỉ 20g mẫu thử chính xác đến 0,01g.

5.2.3 Các sản phẩm rắn hoặc đặc

Cân khoảng 10g mẫu thử (5.1) chính xác đến 0,01g, và dùng 30- 40ml nước, chuyển mẫu vào bình cầu 250ml (4.5).

Thêm khoảng 50mg natri hydro cacbonat (xem chú thích). Lắc, rồi đặt lên nồi cách thủy (4.7), điều chỉnh nhiệt độ lên 70-80 °C, và để trong 15-30 phút. Lọc phần chứa trong bình cầu và tráng hai lần bằng nước, mỗi lần dùng 15-20ml.

Thu toàn bộ dịch lọc vào phễu chiết dung tích 500ml (4.6) (phễu chiết A). Để cho nguội.

TCVN 6428 : 1998

Chú thích : việc cho thêm natri hydro cacbonat là để trung hoà axit benzoic. vì một phần nhỏ của axit này có thể bị mất do bay hơi.

5.3 Chiết axit benzoic

5.3.1 Cho 1g axit tartaric (3.1) vào phễu chiết (A) chứa phần mẫu thử đã được pha loãng (5.2), thêm 60ml dietyl ête (3.5) và lắc kỹ.

Để cho tách lớp, rồi hứng lớp ête vào phễu chiết thứ hai dung tích 500 ml (4.6) (phễu chiết B). Sau đó rửa phần dịch trong phễu chiết thứ nhất (A) bằng 60ml dietyl ête.

Để cho tách lớp, rồi hứng lớp ête vào phễu chiết (B) có chứa lớp ête thu được lần thứ nhất.

Tiếp tục tương tự lần chiết thứ ba bằng 30ml dietyl ête và dồn lớp ête thu được vào cùng hai lần đầu trong phễu chiết (B).

5.3.2 Chiết axit benzoic từ dung dịch ête bằng cách thêm liên tiếp 10ml và tiếp 5ml dung dịch natri hydroxit (3.2), và sau đó hai lần, mỗi lần 10ml nước. Sau mỗi lần cho thêm, lắc, rồi để cho tách lớp và hứng lấy phần dịch.

Hứng dịch vào một đĩa. Đặt đĩa lên nồi cách thủy (4.7), điều chỉnh nhiệt độ lên 70-80 °C, và để đó cho đến khi thể tích dung dịch giảm khoảng một nửa, lấy phần dietyl ête đã hoà tan còn sót lại.

5.4 Tinh chế axit benzoic

Sau khi để nguội, rót dịch ở đĩa vào một bình cầu dung tích 250ml (4.5) có chứa hỗn hợp 20ml dung dịch axit sunfuric (3.4) và 20ml dung dịch kali dicromat (3.3). Đậy nắp bình cầu, lắc và để đó ít nhất 1giờ.

Chú thích :

1) Các chất bảo quản khác có nguồn gốc từ axit benzoic có thể có mặt. Trong trường hợp này, để bình cầu ít nhất 3 giờ, để oxy hoá hoàn toàn ba axit hydroxybenzoic và loại trừ bất cứ sự cản trở nào trong việc xác định. Sự kéo dài thời gian phản ứng tạo ra không ảnh hưởng gì vì axit benzoic chịu được hỗn hợp oxy hoá này.

2) Khi sản phẩm ban đầu cũng chứa axit sorbic, thì cần phải kéo dài thời gian oxy hoá 24 giờ nhằm đảm bảo phân hủy hoàn toàn axit này.

5.5 Chiết axit benzoic tinh khiết.

Chiết axit benzoic bằng cách xử lý dung dịch trên (5.4) hai lần với 20-25ml dietyl ête, thu lấy dung dịch ête. Rửa dung dịch ête hai lần bằng một vài mililit nước. Sau khi gạn rất cẩn thận, lọc qua giấy lọc khô và thu dịch lọc vào bình định mức dung tích 50ml (4.1). Sau đó rửa giấy lọc bằng một vài mililit dietyl ête, thêm đủ dung môi rửa này vào dịch lọc để pha loãng tới vạch.

5.6 Xác định

Dùng máy đo quang phổ (4.9), đo độ hấp thụ của dung dịch ête (5.5) liên quan đến độ hấp thụ của dietyl ête tinh khiết ở bước sóng 267,5nm đến 272nm và 276,5nm (xem chú thích).

Độ hấp thụ do axit benzoic được tính bằng công thức dùng đo sự chênh lệch xuất hiện ở bước sóng 272nm.

$$A_2 = \frac{A_1 + A_3}{2}$$

trong đó : A_1 là độ hấp thụ ở 267,5nm ;

A_2 là độ hấp thụ ở 272nm ;

A_3 là độ hấp thụ ở 276,5nm.

Chú thích : việc xác định quang phổ hấp thụ của dung dịch ête chứa axit benzoic tinh khiết cho phép biểu thị đặc điểm của sản phẩm này bởi sự có mặt của hai đỉnh ở 272nm và 279nm.

Axit benzoic đã được chiết bằng dietyl ête được xác định bằng cách đo chiều cao của đỉnh (pic) ở bước sóng 272nm liên quan tới đoạn thẳng nối các điểm trên trục hoành giữa 267,5nm và 276,5nm

5.7 Số lần xác định

Tiến hành hai lần xác định trên cùng một mẫu thử (5.1).

5.8 Dựng đường chuẩn

Lấy một loạt 6 bình định mức dung tích 50ml (4.1), lần lượt cho vào từng bình 5 - 7,5 - 10 - 12,5 - 15 - 20ml dung dịch chuẩn axit benzoic (3.6). Pha loãng tới vạch bằng dietyl ête (3.5).

Các dung dịch thu được chứa tuần tự 10 - 15 - 20 - 25 - 30 - 40mg axit benzoic/lít.

Tiến hành đo sự chênh lệch của các dung dịch này theo trình tự được mô tả ở 5.6.

Vẽ đường cong biểu thị các lần đo sự chênh lệch liên quan đến số miligram axit benzoic/lít nêu trên.

6 Biểu thị kết quả

6.1 Phương pháp tính toán và công thức

6.1.1 Phân mẫu thử được lấy bằng cách dùng pipet

Hàm lượng axit benzoic sản phẩm tính bằng miligram/lit theo công thức :

$$m_2 \times \frac{50}{20} = 2,5m_2$$

trong đó, m_2 là khối lượng của axit benzoic đọc trên đồ thị chuẩn (5.8) tính bằng miligam.

6.1.2 Phân mẫu thử được lấy bằng cách cân

Hàm lượng axit benzoic tính bằng tính bằng miligram trên kilogam sản phẩm theo công thức :

$$m_2 \times \frac{50}{m_1}$$

trong đó : m_1 là khối lượng của phân mẫu thử (5.2) tính bằng gram ;

m_2 là khối lượng của axit benzoic đọc trên đồ thị chuẩn (5.8) tính bằng miligam.

6.2 Độ lặp lại

Chênh lệch giữa các kết quả của hai lần xác định được tiến hành đồng thời hoặc liên tiếp nhanh do cùng một người phân tích không vượt quá 10mg axit benzoic/lit hoặc kg, tùy thuộc vào các lần xác định riêng biệt nói trên

Chú thích : phương pháp này cho phép xác định lượng axit benzoic chính xác 2mg khi sản phẩm chứa dưới 50mg trên lit hoặc trên kilogam.

7 Báo cáo kết quả

Báo cáo kết quả phải nêu rõ phương pháp đã sử dụng và kết quả thu được. Cần phải nêu tất cả mọi chi tiết thao tác không qui định trong tiêu chuẩn này, hoặc coi như tùy ý lựa chọn, cùng tinh hướng bất kỳ nào có ảnh hưởng tới kết quả.

Báo cáo phải nêu toàn bộ thông tin cần thiết về việc nhận biết hoàn toàn.